

# La lutte contre la maladie du "greening" des agrumes à l'île de la Réunion. Résultats et perspectives.

**B. AUBERT, J.M. BOVÉ et J. ETIENNE\***

LA LUTTE CONTRE LA MALADIE DU «GREENING»  
DES AGRUMES A L'ILE DE LA REUNION

RESULTATS ET PERSPECTIVES

B. AUBERT, J.M. BOVE et J. ETIENNE

*Fruits*, Oct. 1980, vol. 35, n° 10, p. 605-624.

RESUME - La présence de deux psylles vecteurs de la maladie du «greening» *Trioza erythrae* (DEL GUERCIO) et *Diaphorina citri* KUWAYAMA, avait sérieusement compromis tout espoir de redressement des plantations d'agrumes dans le département de la Réunion.

Les actions mises en oeuvre au cours des dix dernières années pour lutter contre cette grave affection des agrumes, ont été engagées dans trois directions : 1) création de parcs à bois et pépinières indemnes de greening, 2) introduction dans l'île d'hyménoptères du genre *Tetrastichus* parasites efficaces des psylles vecteurs, enfin 3) emploi de la chimiothérapie en verger par injection d'antibiotiques sous pression dans le tronc des arbres malades.

L'instauration d'un nouvel équilibre biologique au sein des populations de psylles, devait diminuer considérablement les chances de développement de ces vecteurs dans l'île, et écarter les risques de contamination sur les vergers nouvellement installés. En outre, il devenait possible, grâce à ce moyen de prophylaxie, d'évaluer «in situ» l'action de substances antibiotiques sur des arbres anciennement atteints, mais ne subissant pas de réinoculation systématique par insecte. Cette dernière étude a contribué à parfaire les connaissances sur l'étiologie de la maladie.

## I - HISTORIQUE

Le «greening» constitue un des principaux obstacles au développement de la production d'agrumes dans plusieurs régions d'Afrique et d'Asie. Cette maladie occasionne en effet de graves décolorations de la frondaison, s'accompagnant d'un dessèchement des branchettes et d'une baisse notable de production. Elle affecte sévèrement l'oranger, le

mandarinier, le tangelo, mais peut aussi s'attaquer à l'ensemble des autres espèces appartenant au genre *Citrus*.

Son nom anglo-saxon «greening», lui a été donné il y a environ un quart de siècle en Afrique du Sud, par suite d'un défaut de coloration des fruits à maturité, ceux-ci restant plus ou moins verts. Toutefois, on connaissait le «greening» dans ce pays dès 1929 sous le nom de «Yellow branch disease». C'est, semble-t-il, en Chine continentale, dans la province de Fukien, que la maladie aurait été décrite pour la première fois en 1925 sous l'appellation de «Yellow shoot disease» (LIN, 1956).

Vers les années 1960, les études sur le «greening» devaient franchir une première étape importante, tant en Afrique

\* - B. AUBERT - IRFA-Réunion, B.P. 180 - 97455 Saint Pierre Cedex (Réunion)

J.M. BOVE - Professeur à l'Université de Bordeaux II - Laboratoire de Biologie cellulaire et moléculaire - INRA - Domaine de la Grande Ferrière - 33140 Pont de la Maye (France)

J. ETIENNE - entomologiste IRAT - adresse actuelle :

Institut sénégalais de Recherches agronomiques Djibellor, B.P. 134 ZIGUINCHOR (Sénégal).

qu'en Asie, avec les premières transmissions expérimentales par greffes et par vecteurs. On devait progressivement découvrir la très large répartition géographique de cette maladie, transmise dans les conditions naturelles, par deux psylles : le psylle africain *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO), et le psylle asiatique *Diaphorina citri* KUWAYAMA : CAPOOR (1960), SCHWARZ (1964), OBERHOLZER et al. (1965). L'inoculation par la greffe de feuille, bien qu'obtenue assez difficilement, avait fait penser alors à l'action d'un virus. Pour certains auteurs, la distinction entre «greening» et Tristeza n'était d'ailleurs pas très bien établie : MATSUMOTO et al. (1961), LIN et LIN (1964), MATSUMOTO et SU (1966).

Une seconde étape majeure fut parcourue dix ans plus tard, avec la mise en évidence, par LAFLECHE et BOVE (1970 a) de «structure de type procaryote» dans les tubes criblés d'orangers inoculés avec des souches de «greening» provenant respectivement d'Afrique du sud, d'Asie ou de l'île de la Réunion. Ces auteurs étaient ainsi les premiers à remettre en cause l'hypothèse de la nature virale de cette affection et à établir une similitude étiologique entre le «greening» et diverses affections appelées «Citrus decline» en Inde, «leaf mottling» aux Philippines, «likubin» à Taïwan : LAFLECHE et BOVE (1970 b), BOVE et SAGLIO (1974) et GARNIER et al. (1976).

A l'île de la Réunion, la lutte contre le «greening» n'a commencé à s'organiser qu'avec le développement des connaissances sur les complexes hôtes-vecteurs, tant en Afrique qu'en Asie, régions du globe à partir desquelles la maladie s'était propagée dans ce département.

#### Complexe hôtes-vecteur en Afrique.

OBERHOLZER et al. en 1965 donnaient une première description détaillée des symptômes du «greening». Le psylle africain *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO) était suspecté de transmettre la maladie, car des pullulations brutales de cet homoptère au Transval entre 1958 et 1963 pouvaient être mises en parallèle avec une aggravation des symptômes de dépérissement sur les arbres visités.

Mc CLEAN et OBERHOLZER (1965) puis MOLL et MARTIN (1973) ont démontré le rôle de *T. erytrae* en tant qu'agent vecteur du «greening».

Cet homoptère polyphage avait été décrit vers 1897 sur diverses Rutacées sauvages africaines dont *Vespris lanceolata* (LAM.) G. DON son hôte préféré (MORAN, 1968). MORAN en a d'ailleurs déduit que *T. erytrae* vivait probablement sur le continent africain avant l'introduction des premiers agrumes.

En 1967, ANON inventoriait la zone d'extension de ce vecteur, laquelle comprend notamment le Cameroun et

l'île de Sainte Hélène. A l'Est de l'Afrique, *T. erytrae* est présent en Ethiopie. Il atteint l'Afrique australe par les régions montagneuses à climat frais, car ses nymphes ne résistent pas aux conditions arides (GREEN et CATLING, 1971). On le rencontre au Kenya, au Zimbabwe, au Swaziland et en Afrique du sud.

Sa présence a été signalée également sur plusieurs îles de l'Océan indien en zone d'altitude. En 1967, MOREIRA estimait qu'à l'île de la Réunion et à l'île Maurice ses pullulations devaient être associées au déclin des agrumes. BOVE et CASSIN (1968 A) identifiaient le «greening» à la Réunion et constataient la présence de *T. erytrae* en de nombreux points de l'île. Ils faisaient la même observation sur les hauts plateaux malgaches (BOVE et CASSIN, 1968 B), mais ne pouvaient se prononcer définitivement dans le cas de l'archipel des Comores.

En Ethiopie, CHAPOT (1970) trouvait plusieurs symptômes de décoloration du feuillage attribués au «greening», et SCHWARZ (1976), confirmait ce diagnostic sur des arbres soumis aux attaques de *T. erytrae*. Au Kenya enfin, BAR JOSEPH (1972) décrivait des symptômes foliaires typiques de «greening» que SCHWARZ (1975) a nouveau confirmait.

Divers échantillons de *T. erytrae* sont actuellement rassemblés à la collection de référence du GERDAT de Montpellier. Les adultes provenant du Cameroun sont de taille un peu plus petite que ceux originaires d'Afrique du sud, ces derniers étant eux-mêmes moins développés que les *T. erytrae* capturés à l'île de la Réunion (DE MIRE communication personnelle). On ne peut pas dire encore avec certitude s'il s'agit bien de la même espèce.

#### Complexe hôtes-vecteur en Asie.

En Inde, une maladie connue sous l'appellation de «Citrus decline» était signalée par CAPOOR en 1961. Sa ressemblance avec le «greening» africain attirait l'attention de FRASER en 1966 (FRASER et al., 1966). SALIBE et CORTEZ en 1966 déterminaient aux Philippines une forme de «greening» appelée «leaf mottling». Enfin, TIRTAWIDJAJA et al. (1965) décrivaient la maladie à Java. CATLING (1968 A) à Hong-kong, KNORR et al. (1970) au Pakistan oriental et KNORR et al. (1971) au Népal.

Le psylle asiatique *Diaphorina citri* KUW devait être reconnu responsable de la transmission du «Citrus decline» en Inde (CAPOOR et al., 1967, 1974) et du «leaf mottling» aux Philippines (MARTINEZ et WALLACE, 1967 ; CELLINO et CORTEZ, 1969).

Un type de dépérissement semblable au «greening» et dénommé «Likubin» était signalé à Taïwan en 1971 par MATSUMOTO et al., tandis que séparément CHEN et al. (1971) et TANAKA et DOI (1973) constataient la présence



de structures procaryotes dans les tubes criblés de feuilles atteintes de «Likubin» et de «leaf mottling». Le même type de microorganisme était détecté dans les glandes salivaires de *D. citri* par MING HSIUNG et al. (1963).

Espèce strictement inféodée aux agrumes, *D. citri* avait été décrit dès 1917 en Asie du sud-est par CRAWFORD, et en Chine, au Japon, ainsi qu'à Taiwan en 1933 par CLAUSEN.

Plus résistant aux conditions arides que *T. erytrae*, *D. citri* préfère les régions chaudes à pluviométrie annuelle égale ou inférieure à 1.500 mm. En Inde, c'est surtout l'Etat du Rajasthan avec moins de 500 mm de pluie qui est atteint puis l'Etat du Punjab et celui de l'Utar-Pradesh : (PANDE, 1971). SCHWARZ (1973) en Thaïlande et CATTING (1968 B) aux Philippines ont trouvé que *D. citri* pullule davantage dans les régions abritées des vents de mousson, lorsqu'elles reçoivent moins de 1.000 mm d'eau par an.

C'est très probablement depuis l'Inde que *D. citri* a atteint l'archipel des Mascareignes, où les introductions d'agrumes en provenance de cette région d'Asie ont été fréquentes.

*D. citri* n'a pas été signalé en Afrique, aux Seychelles ou à Madagascar. Il pourrait par contre, avoir atteint certains secteurs de l'archipel des Comores. Des adultes d'aspect très semblable à *D. citri* ont été récemment capturés à l'île de Mayotte. Ils figurent dans la collection de référence du GERDAT de Montpellier.

Au niveau du Proche-Orient, la présence de *D. citri* a été révélée dans l'ouest du Pakistan, à la frontière de l'Afghanistan et de l'Iran (COCHRAN, 1976).

Les études de MASSONIE et al. (1976) ont montré que *T. erytrae* est capable de transmettre la souche asiatique de «greening».

D'autres espèces de psylles qui n'utilisent pas normalement les Rutacées pour leur reproduction, sont capables de s'alimenter sur agrumes. A la Réunion par exemple c'est le cas de *Trioza eastopi* ORIAN, le psylle de *Litsea chinensis* JACQ. (AUBERT, 1977), et très exceptionnellement de *Mesohomatoma lutheri* ENDERLEIN, le psylle de l'*Hibiscus*. Toutefois il n'a pas été possible jusqu'ici de démontrer que l'une ou l'autre de ces espèces est vecteur du «greening».

#### Virulence du «greening» en Afrique et en Asie.

BOVE et al. (1974), ont étudié l'influence de la température ambiante sur l'expression des symptômes de «greening» d'Afrique et d'Asie. Leurs travaux ont montré l'existence d'une différence importante entre la souche originaire d'Afrique et celle originaire d'Asie.

- La souche africaine est «température sensible» : elle n'entraîne l'apparition de symptômes que pour des températures ne dépassant pas sensiblement 25°C le jour et 20°C la nuit. Si les plants inoculés avec cette souche croissent à des températures plus élevées, par exemple 32°C le jour et 25°C la nuit, ils ne manifestent pas de dégénérescence. La maladie ne revêt donc un caractère de gravité qu'en régions d'altitude : zones des Hauts Plateaux de l'Afrique de l'est, de l'Afrique australe ou de Madagascar. On peut noter dans ces régions une accentuation des symptômes en période d'hiver austral, et une rémission temporaire durant la saison chaude.

- La souche asiatique est «température tolérante» : elle entraîne l'apparition d'un dépérissement aussi sévère à 27-32°C qu'à 20-25°C et ne s'accompagne pas de rémission temporaire des symptômes. Les arbres inoculés avec cette souche jaunissent et se dessèchent plus rapidement.

#### Traitements curatifs par antibiothérapie.

ISHII et al. (1967) avaient montré qu'une rémission de la maladie du nanisme du mûrier pouvait être obtenue par traitement des plantes à la tétracycline. L'idée d'utiliser ce produit venait de la découverte dans les tubes criblés des mûriers malades, de cellules vivantes de type mycoplasme à priori sensibles aux composés antibiotiques.

Sur la base de ces résultats, MARTINEZ et al. (1967) aux Philippines engageaient une expérience analogue dans le cas du «greening» et constataient qu'une immersion des bois de greffe d'orangers atteints de «greening» dans une solution de tétracycline HCL à 1.000 ppm de concentration, permettait d'avoir une descendance indemne de symptômes pendant au moins seize mois. SCHWARZ et VAN VUUREN en 1971 obtenaient les premiers cas de rémission des symptômes sur des orangers adultes sévèrement atteints, en injectant dans le xylème 1,5 litres d'une solution de tétracycline à 750 ppm. Un résultat analogue était signalé par CAPOOR et THIRUMALACHAR en 1973.

C'est dans les vergers d'agrumes du Transval que l'antibiothérapie devait connaître le plus d'extension. On y applique actuellement des doses allant jusqu'à 20 g de tétracycline par arbre adulte, à l'aide de compresseurs de forte capacité travaillant à 10 kg/cm<sup>2</sup> de pression.

Diverses tentatives d'injection avec des bouteilles portatives gonflables ont été conduites dans les vergers des pays du sud-est asiatique (SCHWARZ et al., 1974 ; SU et CHANG 1976). Elles n'ont toutefois pas encore débouché sur des applications à plus grande échelle.

#### Situation particulière à l'île de la Réunion.

L'île de la Réunion, ainsi que l'île Maurice voisine, sont



pour l'instant, les seuls pays au monde formellement reconnus comme hébergeant à la fois *D. citri* et *T. erythrae*.

Le relief très montagneux de la Réunion a offert aux deux vecteurs des conditions climatiques favorables à leur développement. Ainsi, le psylle africain est resté localisé en altitude, principalement au-dessus de la ligne des 300 à 500 m d'altitude. En 1974, avant l'introduction de son parasite (voir plus loin), il était particulièrement abondant dans les secteurs suivants : Plaine des Palmistes, Grand Ilet, Tampon, Plaine des Cafres. On le trouvait également à la Plaine des Grègues, dans les Hauts de St-Joseph, au Brûlé, au Guillaume, à Cilaos et même à la Nouvelle dans le Cirque de Mafate (figure 1). Dans ces différents endroits, il pullulait sur agrumes non traités plantés aux abords des habitations, et pouvait aussi trouver refuge sur diverses Rutacées sauvages présentes dans l'île, dont *Vespri lanceolata* (G. DON) et *Murraya* sp.

De son côté, le psylle asiatique restait cantonné dans la zone littorale ouest, depuis l'Etang salé jusqu'à Saint-André en passant par la Saline, Saint-Paul, la Possession et Sainte-Marie. On n'a pas trouvé à la Réunion d'adultes de *D. citri* au-dessus de 300 m d'altitude. La présence de larves de *D. citri* signalée par CATLING en 1973 à Cilaos (12) n'a pu être reconfirmée. L'absence de traces laissées par les larves de ce psylle rend les identifications plus difficiles que dans le cas de *T. erythrae*. Il existe par ailleurs une certaine ressemblance entre les larves de quatrième stade de *D. citri* et les larves de cinquième stade de *T. eastopi*. Or, cette espèce en cas de forte pullulation sur *Litsea* arrive à se reproduire sur Citrus, et une observation à la loupe de terrain peut prêter à confusion (AUBERT, 1977).

Lorsqu'en 1967 le Département de la Réunion confia un programme d'expérimentation agrumicole à l'IRFA, les responsables de cet Institut se trouvèrent donc confrontés à une situation particulièrement difficile.

CATLING (1973), ayant constaté l'absence de toute trace de parasitisme sur les psylles des agrumes à la Réunion, préconisait l'introduction d'hyménoptères parasites en provenance d'Afrique et d'Asie. Après multiplication en insectarium, ces hyménoptères devaient être lâchés en différents points de l'île dans le but de limiter les populations de vecteurs.

La réalisation de ce projet fut confiée d'une part à l'IRFA-Réunion qui entreprit la collecte des insectes en 1974 et 1978 et à l'IRAT-Réunion qui conduisit les multiplications en insectarium, ainsi que la plupart des lâchers.

Toutefois, l'établissement d'un nouvel équilibre biologique à faible pullulation de psylles, ne fut pas le seul élément qui permit un redémarrage progressif de l'agrumiculture réunionnaise. En 1971 en effet, l'IRFA-Réunion avait installé une école à bois, et une pépinière sur la station de

Bassin-Martin dans le sud du Département. Le matériel végétal provenait des Etablissements Willits et Newcomb pour ce qui était des graines de porte-greffe, et de la station INRA-IRFA de Corse pour ce qui était des greffons. Une trentaine d'espèces et variétés issues des lignées SRA de Corse, indemnes de toute maladie de dégénérescence connue pouvaient être implantée à la Réunion.

Ce matériel végétal a constitué le point de départ d'une nouvelle génération de vergers. Toutefois jusqu'en 1975, époque à partir de laquelle les effets de la lutte biologique ont commencé à se faire sentir, les nouvelles plantations effectuées avec ce matériel se sont trouvées à nouveau contaminées. La plupart des arbres du parc à bois de Bassin-Martin étaient quant à eux restés indemnes de symptômes, en raison des pulvérisations insecticides suivies, accompagnées d'une injection annuelle de 1 g de tétracycline par individu.

Ces lignées SRA implantées à la Réunion ont facilité les études «*in situ*» sur la maladie du «greening» complétant ainsi les informations recueillies en laboratoire et en serre.

Nous nous proposons de présenter ici les principales étapes de la lutte menée depuis dix ans à la Réunion contre le microorganisme associé au «greening» et contre ses deux vecteurs. La discussion des résultats obtenus nous conduira à émettre un pronostic sur le devenir de l'agrumiculture dans ce Département. Il convient toutefois de dresser auparavant un état des connaissances accumulées sur le procaryote responsable de cette maladie, connaissances qui ont dicté en grande partie le choix des moyens d'intervention.

## II - NATURE DU PROCARYOTE ASSOCIE A LA MALADIE DU «GREENING»

Les observations de l'ultrastructure sous microscope électronique entreprises par LAFLECHE et BOVE (1970 a) ont mis en évidence que le microorganisme associé à la maladie du «greening» était différent de celui responsable de la maladie du «stubborn», une autre dégénérescence des agrumes, rencontrée en climat méditerranéen et occasionnée par un véritable mycoplasme : *Spiroplasma citri*. Alors que pour «stubborn», les formes associées présentaient une simple membrane de type unitaire de 10 nanomètres d'épaisseur, dans le cas du «greening», l'enveloppe apparaissait comme un triple feuillet totalisant 25 nanomètres d'épaisseur et où, le plus souvent, le feuillet sombre externe et le feuillet sombre interne, denses aux électrons, restaient séparés par un feuillet clair médian. Cette caractéristique a pu être vérifiée aussi bien sur les souches africaines que sur les souches asiatiques de «greening», ce qui différenciait clairement le «stubborn» du «greening» (SAGLIO et al., 1971 ; BOVE et SAGLIO, 1974 ; GARNIER et al., 1976).



Pour le «greening» en outre, on observe quelquefois une séparation entre feuillet externe et feuillet médian, ou mieux entre feuillet externe et feuillet interne. Il a été constaté que ces deux derniers feuillets présentent eux-mêmes une structure trilamellaire totalisant 9 à 10 nanomètres d'épaisseur (GARNIER et BOVE, 1977). L'un constitue la membrane cytoplasmique, et l'autre la paroi cellulaire pour laquelle MOLL et MARTIN (1974) avaient déjà eu quelque évidence.

Récemment, GIBBONS et MURRAY (1979), ont proposé une division des procaryotes en quatre classes, et ont retenu comme critères la présence ou l'absence de peptidoglycane et la morphologie de l'enveloppe. Les Gracillicutes englobent les microorganismes Gram négatif dont la paroi cellulaire membranaire contient du peptidoglycane. Les Firmacutes sont des procaryotes Gram positif à paroi cellulaire non membranaire, mais contenant elles aussi du peptidoglycane. Les Mendocutes possèdent une paroi cellulaire sans peptidoglycane ; enfin, les Mollicutes ne possèdent ni paroi cellulaire, ni peptidoglycane, ils sont simplement entourés d'une membrane cytoplasmique. C'est à cette dernière catégorie qu'appartiennent les mycoplasmes et en particulier l'agent pathogène du «stubborn» : *Spiroplasma citri*.

D'après les observations faites en microscopie électronique, on pouvait retenir pour le microorganisme associé à la maladie du «greening», soit le groupe des Gracillicutes soit celui des Mendocutes. Pour rattacher le microorganisme à l'un des deux groupes, il convenait d'établir si son enveloppe contenait ou non du peptidoglycane. La zone à peptidoglycane chez les Gracillicutes apparaît en général comme une zone dense aux électrons, quelquefois désignée sous le terme de feuillet R, et située entre la membrane cytoplasmique et la paroi cellulaire membranaire. GARNIER et BOVE (1977) ont trouvé sur l'enveloppe du microorganisme associé à la maladie du «greening» que la couche interne de la membrane externe est parfois plus épaisse et qu'elle n'est pas sans rappeler la couche à peptidoglycane de certaines bactéries Gram négatif. A l'heure actuelle, une confirmation de cette observation, par une méthode biochimique directe, ne peut être obtenue puisque le microorganisme du «greening» n'a pas encore été cultivé sur milieu.

Toutefois, des indications indirectes de la présence de peptidoglycane peuvent être fournies en étudiant l'effet de la pénicilline sur des agrumes atteints de «greening». En effet, le seul mode d'action connu de cet antibiotique est l'inhibition de la synthèse de peptidoglycane (GHUYSEN et SHOCKMAN, 1973).

BOVE et al. (1980), ont étudié l'effet curatif de la pénicilline G sur des orangers Madame Vinous, cultivés sur sable en serre, et inoculés avec diverses souches de «greening» provenant soit d'Afrique, soit d'Asie ou de l'île de la Réunion. Le système racinaire de ces plants a été trempé

pendant 17 heures à plusieurs reprises dans une solution contenant 1 g/l de pénicilline G. Comparés aux témoins infectés mais non traités, ces plants malades soumis à l'action de la pénicilline G ont émis beaucoup plus de feuilles, ces dernières étant d'ailleurs indemnes de symptômes, et ont donné un chevelu racinaire plus abondant.

L'observation au microscope électronique du phloème des feuilles apparues après traitement, n'a pas révélé la présence de microorganismes dans les tubes criblés. Des traitements de contrôle ont montré que sur des plants sains, la pénicilline G à la concentration utilisée ne montre pas d'action stimulante ou dépressive particulière sur la végétation.

Sur la base de ces résultats, et ceux de l'observation ultrastructurale de GARNIER et BOVE (1977), BOVE et al. (1980) ont conclu que le microorganisme associé au «greening» était dépendant pour son développement de la synthèse de peptidoglycane et qu'il s'agissait très probablement d'un «organisme bactérien de type Gracillicute». Le fait que la pénicilline G inhibe principalement les bactéries Gram positif (Firmacutes) n'est pas en contradiction avec cette proposition puisque des Gracillicutes comme les Neisseriae, par exemple, sont sensibles à l'action de cet antibiotique.

Par ailleurs, la faible épaisseur de la zone à peptidoglycane chez le microorganisme associé à la maladie du «greening» ne constitue pas une particularité unique puisque des Gracillicutes comme *Pseudomonas aeruginosa* présente la même caractéristique. Il semble bien que la minceur du «feuillet R» soit liée aux propriétés de flexibilité et de pléiomorphisme du microorganisme qui doit se mouvoir à travers les pores des tubes criblés.

Nous montrerons plus loin que les résultats obtenus en serre avec la pénicilline G ont été confirmés *in situ* à la Réunion sur des arbres adultes d'un verger fortement atteint de «greening».

Il semble donc clairement établi que le microorganisme associé au «greening» est de type bactérien et non pas de type mycoplasmaïque.

### III - LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LES PSYLLES VECTEURS DU GREENING

L'incidence des traitements antibiotiques en verger, ne pouvait être évaluée avec suffisamment d'objectivité qu'en l'absence de recontamination par les psylles vecteurs. On comprend donc que, dans l'ordre chronologique des interventions, la lutte biologique contre les vecteurs fut prise d'abord en considération.




VERGERS D'AGRUMES EN PLEIN

Nombre de plants	1960 ou avant	de 1969 à 1973	de 1974 à 1975	de 1976 à 1979
de 150 à 500	■	●	◆	▲
moins de 100	■	●	◆	

VERGERS CREOLES ET ESPECES  
NATURALISEES Vangassaye

 Tous agrumes

 Prédominance orangers et citronniers

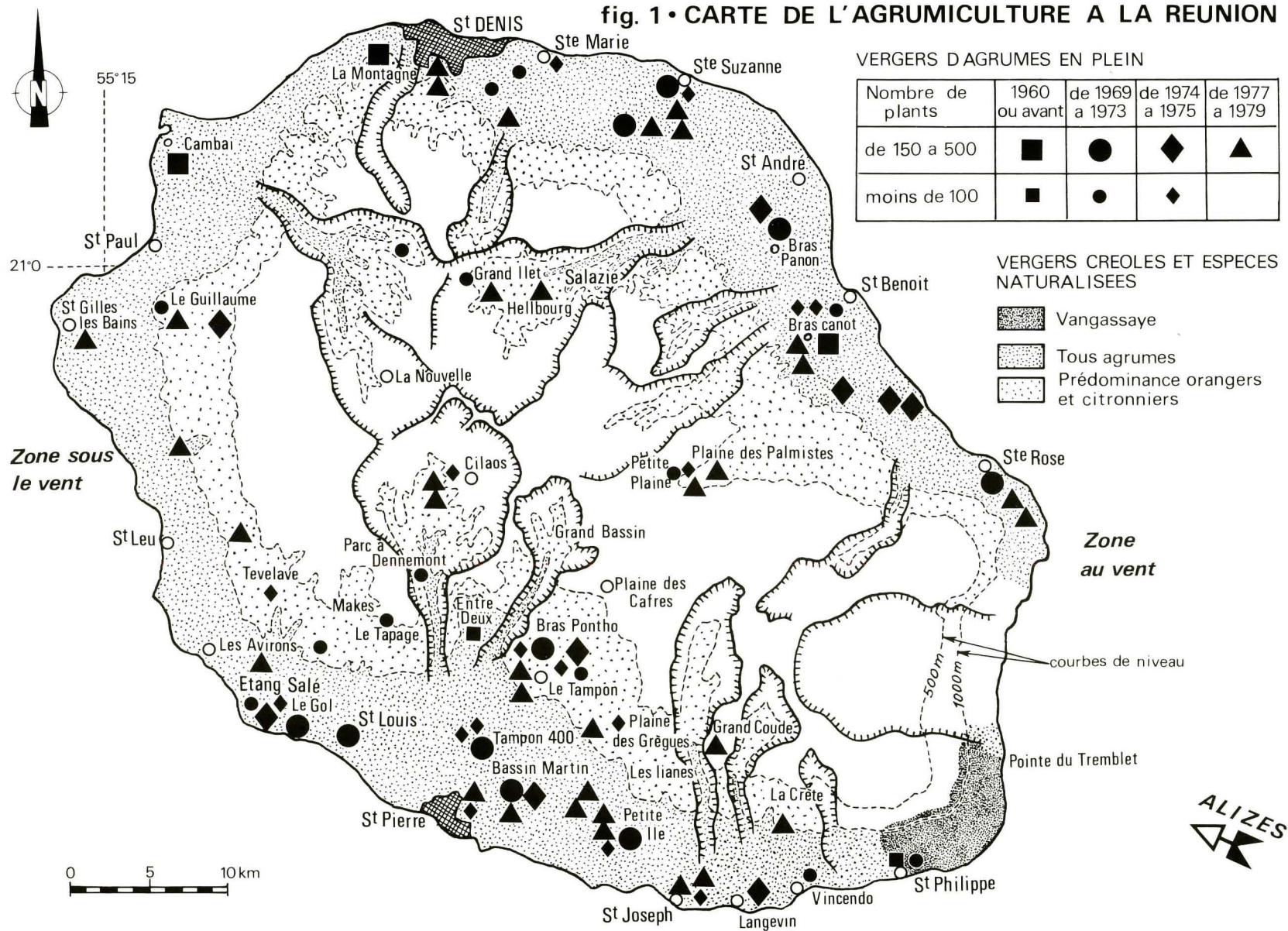




fig. 2 • POINTS DE CAPTURE (↘) DES PARASITES DE PSYLLES VECTEURS DU GREENING.

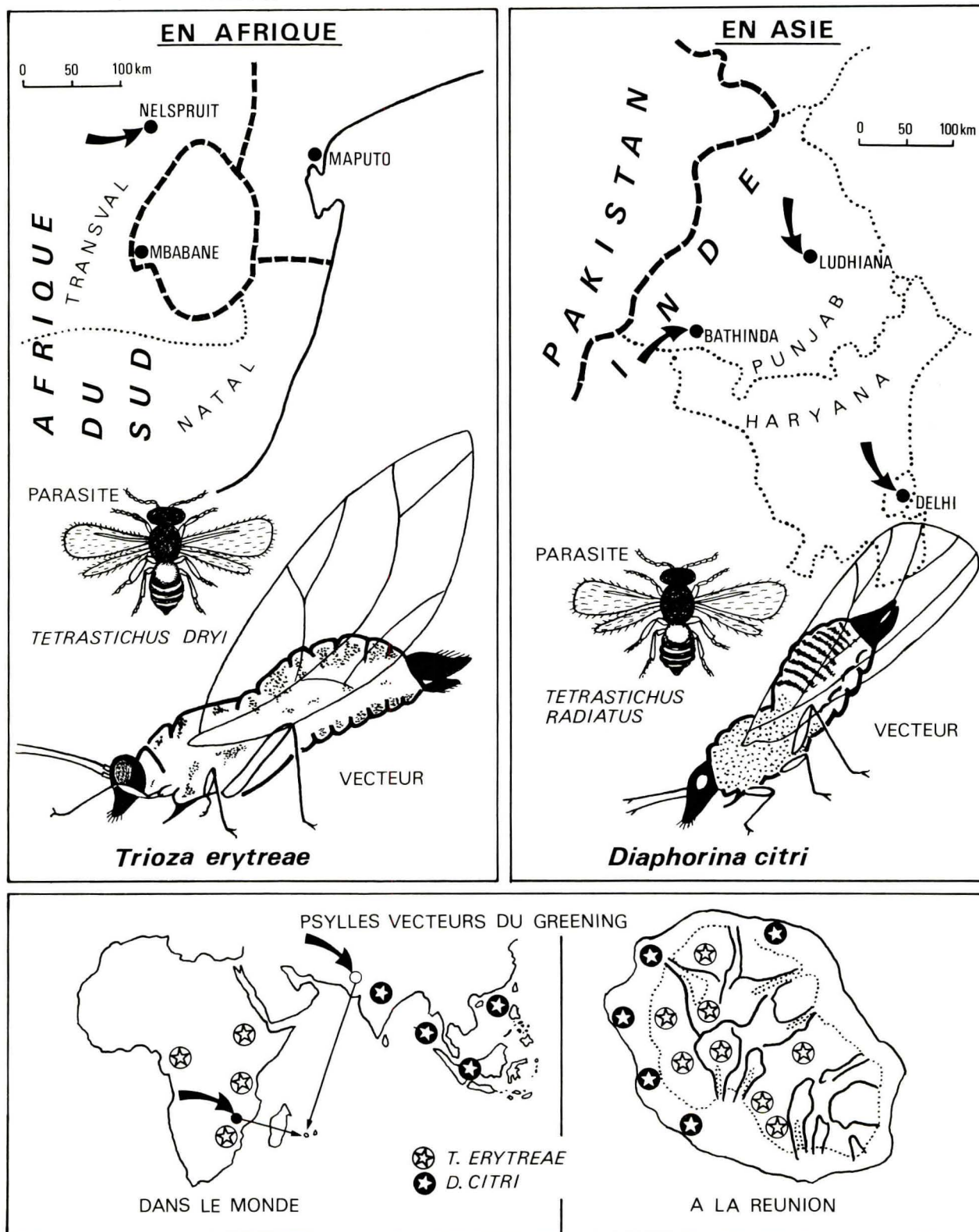
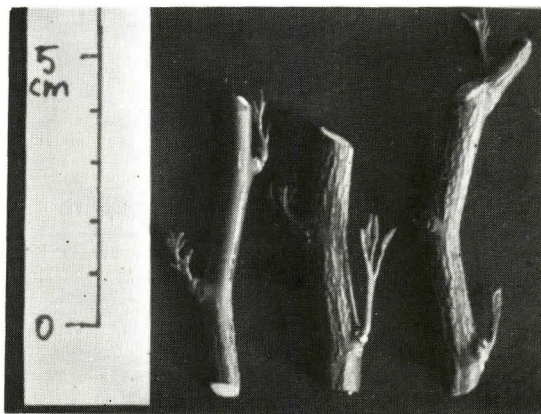


PLANCHE I - METHODES DE TRANSPORT OU DE CAPTURE DES *TETRASTICHUS*  
(photos B. AUBERT).



1. Transport de feuilles d'oranger hébergeant des nymphes de *Trioza erytreae* parasitées.

2. Capture de *Tetrastichus* à l'aspirateur.



3. Transport de jeunes pousses d'oranger colonisées par *Diaphorina citri*.

4. Imago de *Tetrastichus* (x 50)





#### A - Matériel et méthodes utilisées dans la lutte contre les vecteurs.

La lutte biologique préconisée par CATLING en 1972, consistait à introduire deux types d'hyménoptères parasites de psylles : des ectoparasites Eulophidae appartenant au genre *Tetrastichus*, et des endoparasites Encyrtidae appartenant au genre *Psyllaephagus*.

Le choix des lieux de collecte s'est porté sur les zones de pullulation les plus connues. Pour les parasites de *T. erytrae*, c'est le secteur de Nelspruit dans le Transval qui fut retenu, et pour *D. citri*, l'Etat du Punjab en Inde, plus précisément la région au sud de Bathinda limitrophe du Rajasthan (figure 2).

L'époque de récolte s'est située dans les deux cas un mois après la fin de la poussée végétative printanière, c'est-à-dire au moment où les populations de psylles sont soumises au taux de parasitisme le plus intense. Pour le Transval, il s'agissait de la première quinzaine de décembre, et dans le cas du Punjab, de la deuxième quinzaine d'avril. La collecte au Transval eut lieu en 1974 et celle au Punjab en 1978 : (AUBERT, 1975 ; AUBERT, 1978).

La nature du matériel collecté a été différente dans l'un et l'autre cas.

● **Parasites du psylle africain :** une centaine d'adultes de *Tetrastichus dryi* WATERSTON ont été capturés à l'aide d'un aspirateur. Les captures ont eu lieu sur des vergers d'agrumes attaqués par *T. erytrae*. Ce vecteur était lui-même parasité par *T. dryi*.

Chaque imago de *T. dryi* a fait l'objet d'une identification individuelle en laboratoire sous loupe binoculaire. L'ensemble de ce lot a été regroupé dans un tube sur le bouchon duquel était aménagé une fenêtre en voile de tergal. Contre cette fenêtre, on avait appliqué un morceau de papier buvard de 5 x 5 mm, légèrement imbibé de miel.

Ces hyménoptères ont été conservés 24 heures à l'obscurité sous une température variant de 12 à 25°C : 18 heures dans une chambre froide maintenue à plus 13°C, plus 1°C, et 6 heures de transport par avion en cabine. Au bout de cette période ils ont été lâchés dans la région du Tampon sur un verger d'agrumes attaqué par *T. erytrae*, une vingtaine d'entre eux ont été conservés pour les élevages en laboratoire.

Lors de cette même collecte, des feuilles d'orangers cloquées (planche I, photo 1) hébergeant des nymphes de *T. erytrae* parasitées ont été acheminées sous boîte en carton, scellée avec une bande adhésive. A l'arrivée à la Réunion, cette boîte a été ouverte à l'intérieur d'un caisson étanche aux insectes et des éclosions d'adultes des trois espèces suivantes ont été obtenues :

*Tetrastichus dryi* WATERSTON ectoparasite de *T. erytrae*  
*Psyllaephagus pulvinatus* WATERSTON endoparasite de *T. erytrae*

*Aphidencyrthus cassatus* ANNECKE hyperparasite de *T. dryi*

Le tri de ces trois espèces a été réalisé par ETIENNE (1975). L'hyperparasite a été systématiquement éliminé, les deux autres espèces ont été élevées en insectarium en vue des lâchers. La technique d'élevage a été décrite par ETIENNE (1979).

L'étroite spécificité de *T. dryi* pour le psylle africain, a rendu obligatoire la collecte d'un autre parasite s'attaquant à *D. citri*.

#### ● Parasites du psylle asiatique :

Dans le cas du psylle asiatique, il a fallu utiliser des modes de collecte et de transport différents. En effet, les délais d'acheminement qui étaient cette fois de plus de 72 heures dans des conditions difficiles, rendaient aléatoire un transport d'hyménoptères adultes. On a donc choisi de récolter des jeunes bourgeons nouvellement éclos, portés par des branchettes de 8 à 10 mm de diamètre (planche I, photo 3). Ces bourgeons étaient colonisés par des nymphes de *D. citri* sur lesquelles on avait vérifié au préalable le degré de parasitisme par observation à la loupe binoculaire.

L'ensemble a été transporté dans une glacière portative à une température comprise entre 8 et 15°C. A l'arrivée, les jeunes larves ont été déposées sur des plants d'agrumes placés dans un caisson étanche aux insectes. Après éclosion, seuls les adultes de *Tetrastichus radiatus* WATERSTON ont été récupérés pour les élevages. Toutes les autres espèces d'hyménoptères ayant pu éclore ont été tuées (ETIENNE, 1979), puis envoyées pour détermination. La taxonomie de ce complexe parasitaire n'est pas encore achevée. D'après PRINSLOO (communication personnelle), elle comprendrait au moins trois espèces de *Psyllaephagus*, et probablement deux espèces d'*Aphidencyrthus*.

Sur environ cinq cents nymphes de *D. citri* arrivées vivantes à la Réunion, il n'a été possible de recueillir que huit imagos de *T. radiatus*.

Les lâchers de *T. dryi* et de *T. radiatus* ont eu lieu dans des vergers abandonnés ne recevant aucun traitement insecticide. Pour *Tetrastichus dryi*, le nombre d'adultes libérés s'est élevé à 33.000, soit une moyenne de 30 à 50 hyménoptères par kilomètre carré de surface à agrumes. Pour *Tetrastichus radiatus*, un total de 6.000 adultes a été lâché dans la zone côtière sous le vent, ce qui équivaut selon les cas, à 10 ou 20 individus par kilomètre carré de surface à agrumes (ETIENNE et AUBERT, 1979). Les imagos de ces deux *Tetrastichus* sont très semblables morphologiquement, elles se caractérisent par la présence d'une tache blanche sur l'abdomen (planche I, photo 4).



### B - Résultats : nouvel équilibre biologique résultant de l'introduction des deux *Tetrastichus*.

Une des premières constatations qui fut faite peu de temps après l'introduction de *Tetrastichus dryi* WATERSTON, était l'impossibilité pour cet hyménoptère de parasiter *Diaphorina citri* KUW., ceci malgré plusieurs tentatives poursuivies en laboratoire par ETIENNE (1979). En conséquence PRINSLOO et ANNECKE (1980), ont été conduits à réidentifier ce que l'on croyait être alors *Tetrastichus radiatus*, dénommé aussi *T. ? radiatus* en attendant un nouveau travail de taxonomie.

En second lieu, il apparaissait que le pouvoir d'implantation et de dispersion de l'ectoparasite *T. dryi*, était bien supérieur à celui de *Psyllaephagus pulvinatus* WATERSTON son homologue endoparasite, lequel était désavantagé par un cycle de développement deux fois plus long : 21 jours contre 12 jours.

*T. dryi* par exemple, lors des premiers lâchers était retrouvé à une dizaine de kilomètres de son point d'origine. Il réapparaissait en certains endroits sur de petites colonies de psylle africain deux ans après une absence complète de ce vecteur. Aucun phénomène analogue ne pouvait être remarqué dans le cas de *P. pulvinatus*.

En 1978, les seules populations résiduelles de psylle africain étaient celles d'un verger de la Plaine des Palmistes soumis antérieurement à des applications régulières d'insecticides. En 1979 une seule manifestation de *T. erytrae* était signalée. Il s'agissait d'un petit verger de citronniers du Tampon cultivé en association avec des fraisières. Lors des traitements hebdomadaires effectués à l'atomiseur sur les fraisières, les arbres se trouvaient touchés par le nuage insecticide. Hormis ces cas d'exception, il n'a pu être constaté dans l'île, d'autres formations de galles de psylle africain sur les feuilles d'agrumes.

Un autre élément qui semble avoir renforcé singulièrement ce processus de lutte biologique contre *T. erytrae*, a été l'installation de *T. dryi* sur *Trioza eastopi* ORIAN, un psylle assez polyphage qui avait été signalé sur agrumes, vigne, papayer, avocatier et vanille, dans de nombreux endroits de l'île (AUBERT, 1977). Il se multipliait abondamment sur *Litsea chinensis* JACQ, un arbuste connu localement sous l'appellation d'«avocat marron». Cette Lauracée multipliée par les oiseaux qui apprécient ses fruits, colonise les jachères, les laves, les ravines jusque 800-900 mètres d'altitude. Elle se rencontre surtout dans les «fourrés paraclimaciques à *Leucena* et *Litsea*» lesquels constituent une formation non négligeable de la végétation de l'île (CADET, 1977).

A partir de 1978 une raréfaction très sensible de *Trioza eastopi* a été constatée par suite d'un parasitisme affectant les larves de quatrième et cinquième stade. PRINSLOO (communication personnelle) auquel nous avons remis des échantillons d'hyménoptères parasites de *T. litseae* capturés

dans la région de l'Entre-Deux, n'a pu trouver aucune différence morphologique entre ces derniers et *T. dryi*. Il semble bien que les territoires faunistiques et floraux à base de *Leucena* et *Litsea* aient joué et jouent encore un rôle de relais, dans le développement des populations de *T. dryi*.

Parallèlement, les principaux foyers à *D. citri* répertoriés sur quelques vergers abandonnés de la côte ouest (Etang Salé, la Saline, Saint-Gilles et Cambai), ont été éliminés dans les six mois qui ont suivi les lâchers de *T. radiatus*. L'expérience acquise précédemment avec le psylle africain, avait permis de concentrer tous les efforts uniquement sur l'élevage de l'ectoparasite. Certes, *D. citri* est réapparu épisodiquement sous forme de petites colonies, mais ces dernières ont été rapidement et efficacement parasitées dès la fin de 1978. On ignore encore si *T. radiatus* est capable de parasiter le psylle de «l'avocat marron».

Le succès enregistré dans la lutte contre les deux vecteurs du «greening» ne doit cependant pas faire oublier le respect de certaines règles élémentaires lors des traitements insecticides dirigés contre les autres ravageurs des agrumes. En effet, l'emploi inconsidéré d'insecticides à large spectre d'efficacité et agissant à faible dose, risque de retarder l'installation des hyménoptères parasites, plus vulnérables que leurs hôtes à ces produits. Les pullulations très circonscrites et fugaces de *T. erytrae* observées en 1978 et 1979 sont à mettre très probablement sur le compte des résidus de pesticides par suite de traitements trop rapprochés.

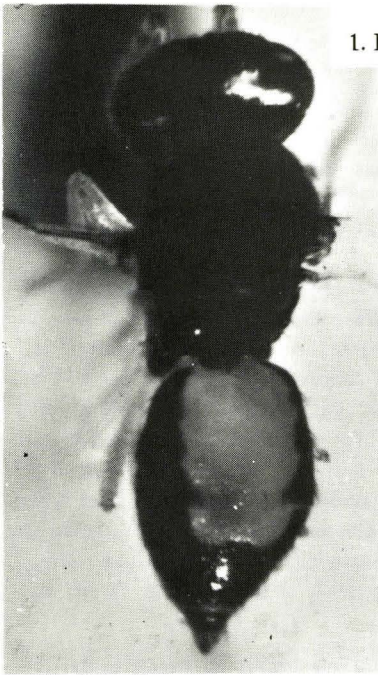
Cette réserve étant faite, on peut dire que l'établissement dans l'île des deux *Tetrastichus* n'autorise qu'un développement extrêmement faible des vecteurs de la maladie du «greening». Le nouvel équilibre biologique obtenu ne semble pas devoir être remis en cause à la suite d'un accident météorologique. Par exemple, *T. radiatus* a survécu aux pluies torrentielles de «Hyacinthe», puisqu'il a été retrouvé sur une petite colonie de *D. citri* dans les semaines qui ont suivi le passage de ce cyclone dans l'île.

Le maintien des populations de vecteurs dans ces étroites limites a entraîné une sensible amélioration de l'état sanitaire des vergers nouvellement plantés. Il est intéressant de comparer à ce sujet l'évolution de la situation entre 1970 et 1980.

Lors d'une enquête effectuée en 1976, sur 1.000 arbres répartis en 12 vergers, on avait constaté que toutes les plantations effectuées de 1970 à 1975, avec du matériel végétal sain de la SRA de Corse, étaient atteintes de «greening» à des degrés divers. La note moyenne des symptômes (voir plus loin), sur ce milieu de jeunes arbres était de 11/40 (AUBERT, 1977).

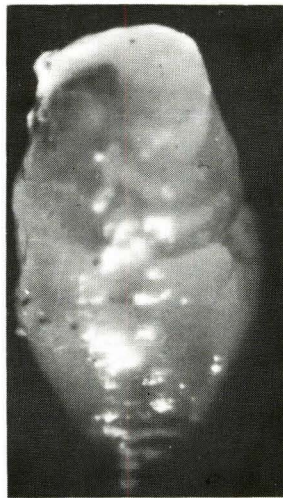
Entre début 1975 et début 1980, un contingent de 25.000 arbres élevés dans des conditions identiques a été distribué aux planteurs. Environ la moitié de ces arbres se





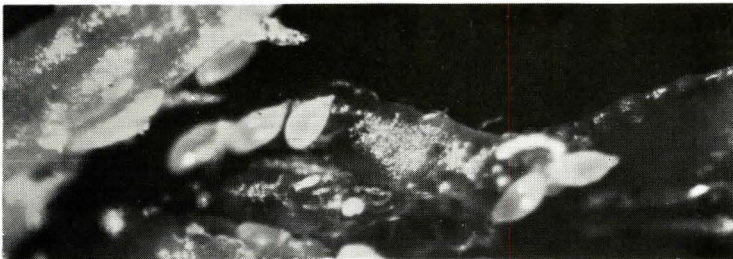
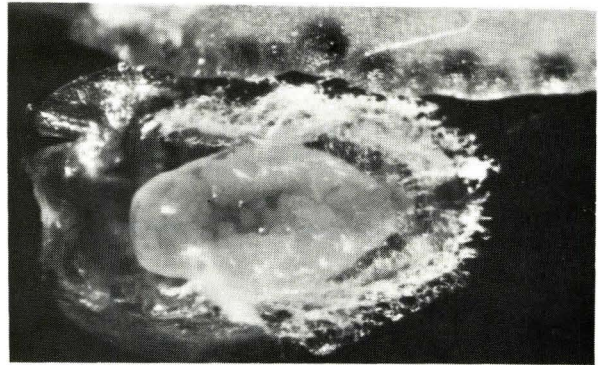
1. Imago (x 50).

TETRASTICHUS RADIATUS



2. Nymphe (x 50).

3. Larve de *Diaphorina citri* retournée (x 50) : la cavité est occupée par une nymphe de *Tetrastichus radiatus*.



4. Oeufs (x 25).

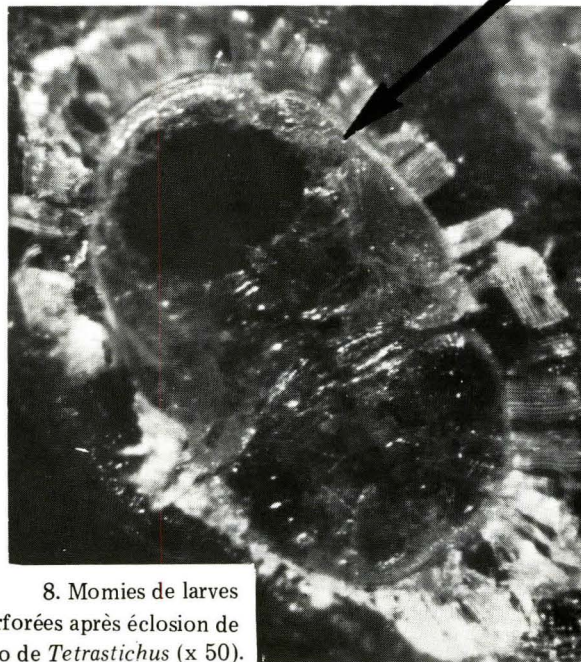


5. Adulte.

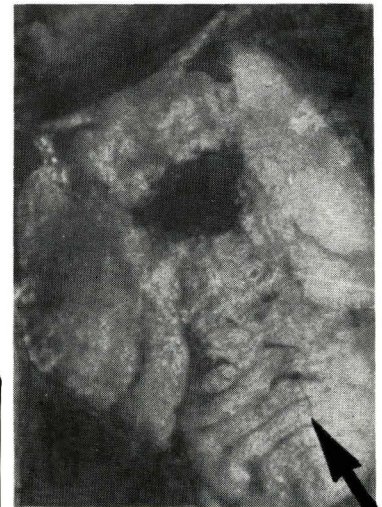
DIAPHORINA CITRI



7. Oeufs et larves (x 25).



8. Momies de larves perforées après éclosion de l'imago de *Tetrastichus* (x 50).



6. *Diaphorina citri* (x 50).

*Trioza erytreae.*

TRIOZA ERYTREA



trouvent actuellement répartis dans une trentaine de vergers approchant ou dépassant un hectare (figure 1).

Nous n'avons relevé à ce jour, qu'une vingtaine de cas déclarés de «greening» dont six ont pu être confirmés par greffe d'inoculation ; il s'agissait de 4 tangelos Orlando et de 2 orangers Hamlin.

#### IV - CHIMIOThERAPIE PAR INJECTION D'ANTIBIOTIQUES DANS LES ARBRES

##### A) Matériel et méthodes utilisés pour combattre l'agent pathogène.

L'étude de l'efficacité des traitements antibiotiques en vergers, nous a conduit à mettre au point un procédé d'injection sous pression d'une part, et une méthode de notation des symptômes de «greening», d'autre part.

##### ● Procédé d'injection.

L'application de produits en solution a été exécutée avec des bouteilles permettant d'injecter deux litres de liquide dans le tronc des arbres, sous une pression de 4 à 5 kg/cm<sup>2</sup>.

Le temps de pénétration du liquide était en moyenne de 1 h 45 mn. Ce procédé d'injection a fait l'objet d'une description détaillée (AUBERT, 1979).

Pour étudier la diffusion du produit injecté dans l'arbre, on a utilisé la méthode des antibiogrammes au niveau notamment des nervures de feuilles (AUBERT et BOVE, 1980).

##### ● Méthode de notation des symptômes de «greening».

Pour suivre l'évolution des symptômes de «greening» en verger, on a retenu cinq degrés d'attaque :

- 1<sup>er</sup> degré : l'attaque du **premier degré** intéresse quelques pousses de l'année, qui forment de petites plages décolorées et bien circonscrites. La phénologie et la fructification ne subissent pas d'anomalie importante car la plus

grande partie du système aérien est encore apparemment saine. Ces décolorations s'apparentent à des carences en bore, zinc ou manganèse (planche III, photo 1).

- 2<sup>ème</sup> degré : ces premières contaminations évoluent ensuite en attaque de **deuxième degré**. Dans ce cas, la masse foliaire décolorée intéresse toute une branche dont le diamètre à la base est d'environ 2 cm, et porteuse de 15 à 30 pousses de l'année. On enregistre l'apparition de troubles de la phénologie : floraison de contre-saison, chute prématurée des feuilles - et de la physiologie : coulure des fruits à un stade avancé, développement asymétrique de la columelle en type «lobesidés», graines avortées, baisse de la teneur en sucres et en jus, et, enfin, absence de coloration de la peau, d'où le terme de «greening».
- 3<sup>ème</sup> degré : dans le cas d'une attaque de **troisième degré**, c'est l'ensemble d'une branche sous-maîtresse, d'un diamètre de 4 à 5 cm à sa base, qui est atteint. Le secteur malade couvre alors au moins un huitième de la surface de la frondaison, et on enregistre les mêmes troubles phénologiques et physiologiques que précédemment. La baisse de production est très importante.
- 4<sup>ème</sup> degré : l'attaque du **quatrième degré** intervient lorsque la maladie ayant gagné de larges secteurs de la frondaison provoque des dessèchements de branchettes. Les quelques fruits qui se sont maintenus se modifient et de fréquentes poussées végétatives porteuses de petites feuilles sont émises.
- 5<sup>ème</sup> degré : le **cinquième degré** correspond au dessèchement complet de la zone atteinte.

Pour noter les symptômes de «greening» sur un arbre, on observe sa couronne sur les quatre points cardinaux en la subdivisant par un plan horizontal passant en son milieu. On peut ainsi distinguer huit sous-secteurs : figure 3. On affecte alors chaque huitième de surface de frondaison d'un chiffre allant de 0 à 5 : zéro en absence de symptômes, et 1 à 5 selon les degrés d'attaque définis ci-dessus. La somme des quatre sous-secteurs conduit à attribuer à l'arbre, une

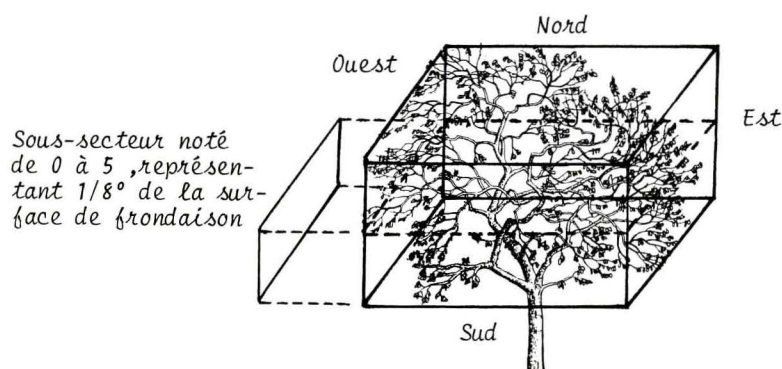
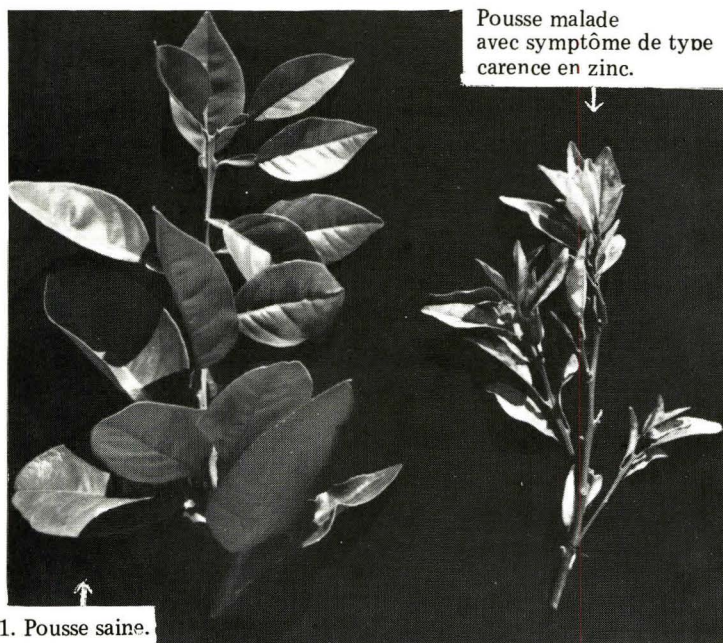


fig. 3 • SYSTÈME DE NOTATION  
DES SYMPTÔMES DE GREENING  
SUR 40.





2. Symptômes foliaires typiques : «taches vertes sur fond jaune».



3. Degré d'attaque greening 25/40. L'arbre a gardé des feuilles de l'année précédente, mais est soumis à un dessèchement important des branchettes.



4. Degré d'attaque greening 35/40. Réémission constante de jeunes pousses, visitées par les psylles.



note allant de 0 à 40. On trouvera des exemples de notations sur la planche III, photos 3 et 4.

Ce système d'évaluation permet de rendre compte de l'évolution sectorielle de la maladie sur l'arbre.

Pour éviter toute influence saisonnière, l'époque de notation retenue a été la deuxième quinzaine de septembre, laquelle correspond à la Réunion, à la dernière vague de poussée végétative printanière.

#### ● Expérimentation d'antibiothérapie en verger.

Le mode d'action de deux antibiotiques, la pénicilline G et la tétracycline HCL, a été étudié dans un verger de 200 arbres âgés de 7 ans, et plantés à l'Etang-Salé sur un terrain homogène, dans la zone à *Diaphorina citri*. Les arbres étaient greffés sur citrange Troyer avec du matériel sain en provenance de la Station INRA-IRFA de San Giuliano en Corse. Les attaques de *D. citri* ayant contaminé ce verger en quelques années, il nous a été possible de sélectionner douze triplets d'orangers identiques quant aux caractéristiques suivantes : 1) même degré d'attaque «greening» en notation sur 40 ; 2) même variété ; 3) même circonférence du tronc juste au-dessus du niveau de la ligne de greffe ; 4) même poids de récolte.

Dans chaque triplet d'arbres homogènes, un sujet a été conservé comme témoin, et a reçu de l'eau pure en injection, l'autre a subi une application de 18 g de pénicilline G par an, dilués dans 6 litres d'eau, et le troisième une injection de 6 g de tétracycline HCL par an dilués dans 2 litres d'eau.

L'expérience s'est poursuivie sur une période de trois années, les traitements en injection étant effectués chaque année en période de poussée printanière.

Chacun des 36 arbres a été noté annuellement pour son degré d'attaque de «greening», et sa récolte a été pesée.

Cet essai a commencé en décembre 1977, c'est-à-dire cinq mois avant les premiers lâchers de *Tetrastichus radiatus*.

La technique de notation au champs des degrés d'attaque de «greening» par observations visuelles, a été confrontée à des séries de diagnostics effectués en cage d'isolement sur des plantes indicatrices. On a prélevé à cet effet des feuilles représentatives d'un secteur d'arbre, pour les greffer sur des orangers Madame Vinous de semis élevés sous cage d'isolement. Le type de greffe d'inoculation utilisé était celui décrit par VOGEL (1976).

#### B) Résultats obtenus dans la lutte contre l'agent pathogène.

Les contrôles effectués par antibiogrammes ont montré que le procédé d'injection utilisé pour traiter les arbres atteints de «greening», entraîne une diffusion de la pénicilline G ou de la tétracycline HCL sur l'ensemble de la

couronne, la durée de persistance de ces antibiotiques dans le végétal étant environ de dix jours (AUBERT et BOVE, 1980). Par ailleurs, l'azocarmine, un colorant rouge appliqué en injection à la concentration de 3 g/l a été retrouvé dans les différentes parties aériennes 24 heures après le début du traitement selon les modalités suivantes :

- dans le tronc, seul l'aubier laisse apparaître une coloration rouge après dissection, le cœur reste blanc, il en va de même pour les grosses branches.
- dans les branchettes et les brindilles vertes, toute la section transversale se colore en rouge.
- la nervure des feuilles se colore également en rouge, ainsi que les faisceaux vasculaires des jeunes fruits.

Lors des essais poursuivis en vergers pendant plusieurs années à la Réunion, et portant sur quelques 200 arbres, il n'a pas été constaté d'exemples de blocage à la diffusion de liquide dans les troncs injectés. Toutefois, si les traitements se déroulent en période de poussée végétative, la pénétration du produit est plus rapide qu'en période de repos végétatif. Mais, dans aucun cas, la solution injectée ne semble avoir rencontré de barrière infranchissable au niveau du tronc tout au moins. Cette remarque met en question la présence éventuelle du «blight» à la Réunion, une affection des agrumes décrite par CHILDS 1979-A et CHILDS 1979-B. En effet, cette maladie qui sévit notamment en Floride se caractérise par une obstruction des vaisseaux du bois, empêchant toute pénétration de liquide injecté dans le tronc, même sous forte pression.

#### ● Effets comparés de la pénicilline G et de la tétracycline HCL.

Au cours des essais poursuivis sur les douze triplets d'arbres homogènes, l'effet des traitements s'est fait sentir plus rapidement avec la pénicilline G qu'avec la tétracycline HCL. Les quantités d'antibiotiques appliquées se sont élevées à 100 mg par kg de poids frais pour la pénicilline, cette dose étant répartie en trois injections, et à 25 mg par kg de poids frais pour la tétracycline. Dans les deux mois qui ont suivi le traitement, les arbres ayant reçu de la pénicilline ont émis une vigoureuse poussée végétative. Les plus atteints sont repartis en végétation au niveau des bourgeons latents situés sur les grosses branches. Avec la dose de tétracycline utilisée on a observé un effet phytotoxique pendant environ trois mois. Cette phytotoxicité se traduisait par l'apparition d'une coloration vert-grisâtre des feuilles de la couronne, et l'émission de jeunes pousses à limbes très étroits. Passé ce délai, l'arbre émettait une vigoureuse poussée végétative. On trouvera sur la planche IV, photo 3, un exemple typique de cette reprise de végétation sous l'effet de la tétracycline ou de la pénicilline.



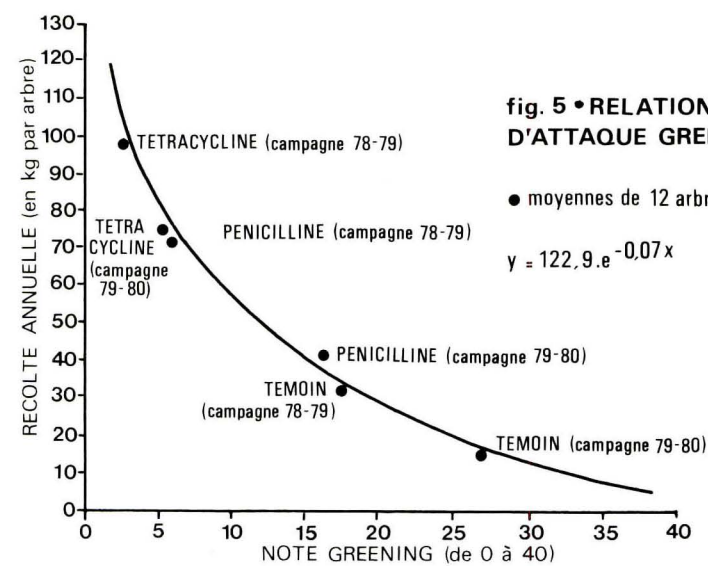


fig. 5 • RELATION ENTRE DEGRE D'ATTAQUE GREENING ET RENDEMENT.

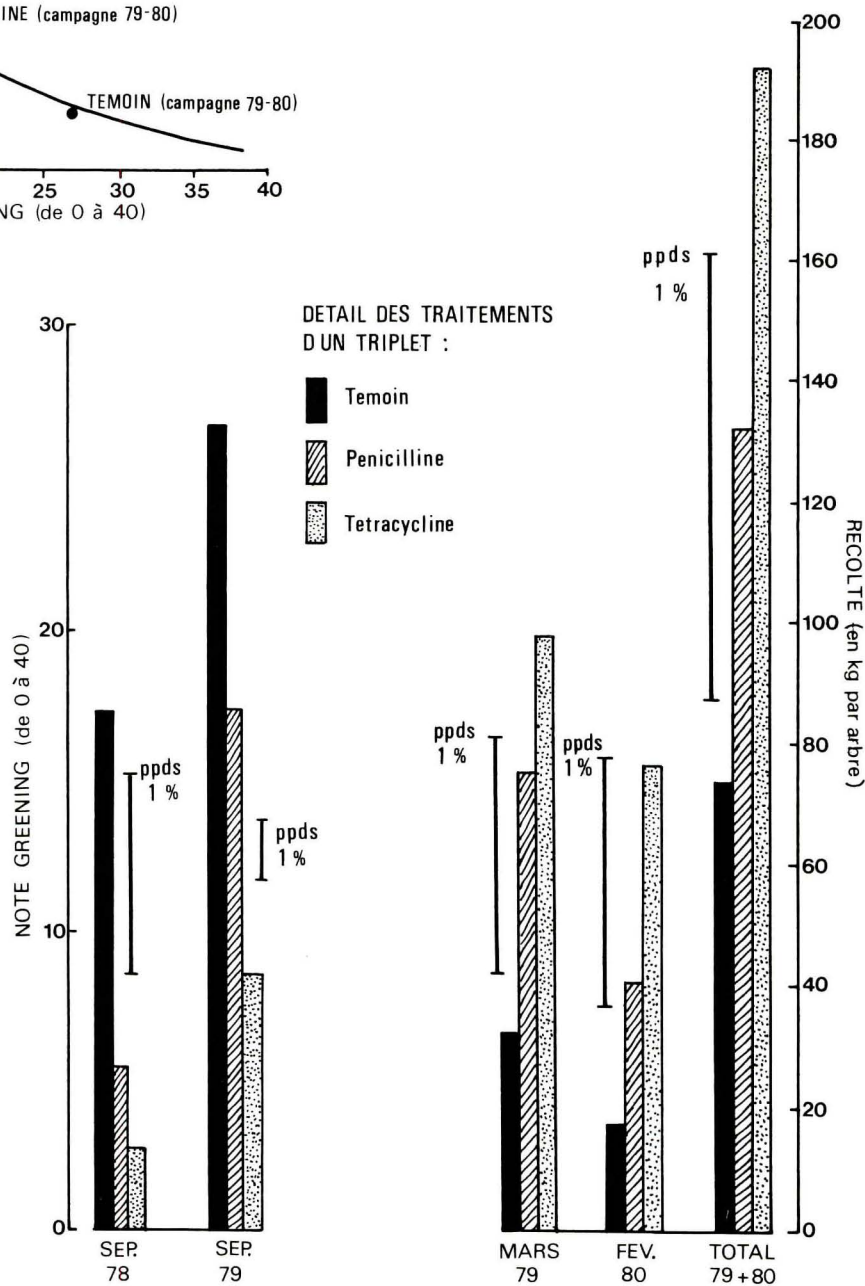
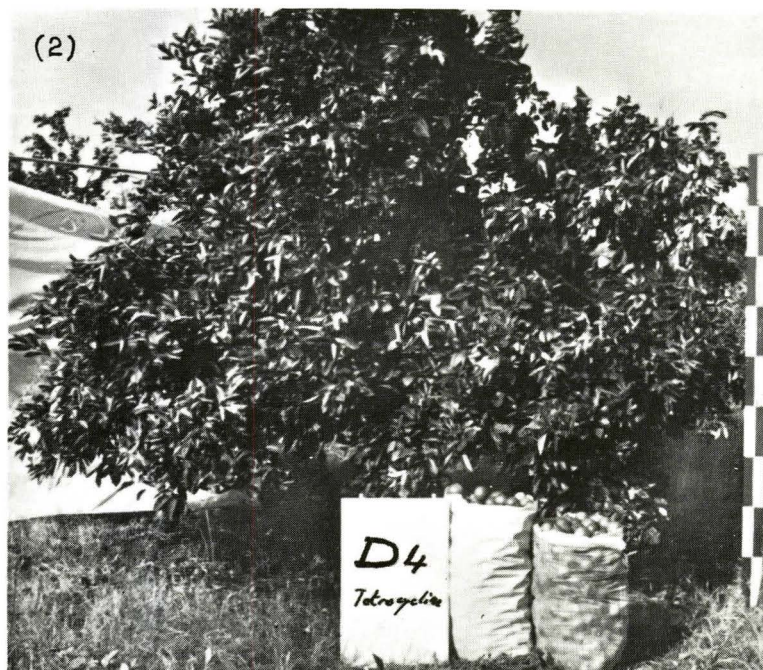
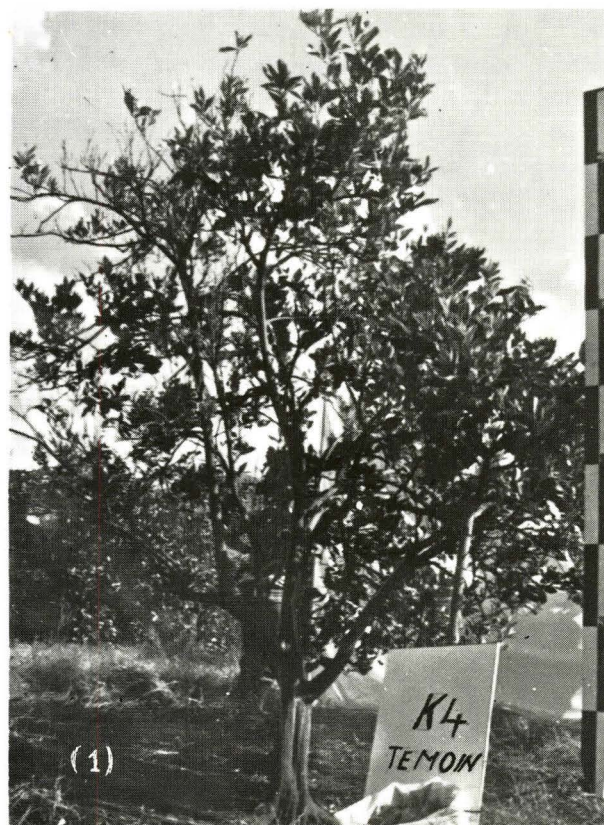


fig. 4 • MOYENNES DES RESULTATS OBTENUS SUR DOUZE TRIPLETS D'ORANGERS. La sélection des arbres par groupe de trois individus homogènes a été faite en septembre 1977. Les traitements ont commencé en décembre 1977.



PLANCHE IV - INCIDENCE DU GREENING SUR LA PRODUCTION (photos B. AUBERT).

1. Arbre témoin atteint de greening : absence de récolte, dégarnissement de la frondaison et dessèchement des branchettes.
2. Son homologue après récupération grâce à un traitement à la tétracycline par injection dans le tronc : bonne frondaison, 90 kg de fruits récoltés.
3. La flèche indique l'émission d'une vigoureuse poussée végétative sur un rameau malade résultant d'un traitement antibiotique.





L'évolution générale des symptômes de «greening» sur les 36 arbres de l'essai en deuxième et troisième année de traitement, est donnée sur la figure 4. On observe, en 1978, une différence significative à 1 p. 100 entre les témoins qui restent très affectés et les arbres des deux traitements antibiotiques. Pour ces derniers, l'amélioration est aussi bonne dans l'un et l'autre cas. En 1979 par contre, on note une augmentation d'intensité des symptômes pour les trois traitements. La différence entre la pénicilline et la tétracycline devient significative à 1 p. 100. Or, il convient d'attribuer cette évolution des symptômes beaucoup plus à un développement de l'agent pathogène dans les tissus atteints, qu'à sa réinoculation par les psylles. A partir de la fin de 1978 en effet, les chances d'apparition de *D. citri* ont été très faibles comme il a été vu précédemment.

Deux cas de transmission par greffe de feuille sur oranger Madame Vinous ont été obtenus en prélevant des limbes sur des arbres antérieurement traités à la pénicilline et montrant de nouveaux symptômes de «greening». Une période de six mois s'était écoulée entre le prélèvement des feuilles et la dernière injection de pénicilline.

Les résultats de récolte quant à eux ne font que traduire ceux enregistrés sur le plan des symptômes visuels. Les arbres témoins ne dépassent pas une production de 30 kg en moyenne. Leur récolte en deuxième et troisième année de traitement est significativement inférieure à celle des arbres injectés (figure 4). En 1979, l'effet de la pénicilline était voisin de celui de la tétracycline, avec une production individuelle égale ou supérieure à 80 kg en moyenne. Par contre, en 1980, les arbres traités à la pénicilline n'ont pas fourni plus de 40 kg de fruits ; ils présentaient de nouveaux symptômes foliaires de «greening», les doses d'antibiotiques appliquées annuellement étant restées au même niveau.

L'interprétation des résultats par analyse de la variance en répétitions simples, avec calcul de la plus petite différence significative, a été complétée par une interprétation en blocs de Fisher et par une analyse de covariance. Les conclusions finales n'ont pas varié sensiblement selon ces modes de calcul (LOSSOIS, 1980).

L'amélioration de l'état sanitaire sous l'effet de la pénicilline eut probablement été plus durable et plus complet avec un meilleur ajustement des doses et des cadences de traitement. Ceci ne nous a pas empêché toutefois de démontrer clairement l'action positive quoique passagère de cet antibiotique sur des arbres contaminés naturellement en verger.

Par ailleurs, le groupement des arbres en triplets homogènes et les taux de récupération variables (meilleurs dans le cas de la tétracycline que dans celui de la pénicilline), nous a conduit à établir la courbe reliant symptômes foliaires et production. Si l'on porte en ordonnée la récolte en kg, et en abscisse la note de degré d'attaque sur la frondaison, on

obtient une courbe exponentielle à pente négative : figure 5.

Ainsi, un arbre noté de 0 à 5 ne montre en général que des symptômes de premier degré. Il ne présente pas de baisse significative de rendement par rapport au témoin. Dans les conditions de la Réunion, des orangers de 7 ans fournissent une production de 80 à 110 kg, s'ils sont en bon état sanitaire. Les arbres notés dans cette catégorie sont, ou parfaitement sains ou très peu atteints de «greening».

Pour un arbre noté de 5 à 15, le jaunissement devient important et s'accompagne d'accidents phénologiques et physiologiques. La baisse de production par rapport au témoin peut atteindre 60 p. 100. Le traitement par antibiotique donne sur ces arbres une réaction rapide. Dans l'année qui suit, leurs performances redeviennent proches de la normale.

Pour un arbre noté de 15 à 25, on assiste au dessèchement complet d'un ou plusieurs sous-secteurs. La baisse de rendement par rapport au témoin est de 80 p. 100 au moins. Le traitement curatif par injection d'antibiotique ne produit ses effets que dans un délai de 2 ans, l'arbre devant renouveler ses rameaux fructifères.

Enfin, au-delà de la note 25, l'arbre devient presque totalement improductif. Il repart régulièrement de bourgeons latents et émet des floraisons anarchiques qui évoluent rarement à fruits.

Cette relation entre les symptômes foliaires et la production illustre bien l'impact que peut représenter la maladie du «greening» sur le plan économique, puisqu'à partir de la note 10 la production de l'arbre est réduite de moitié.

## CONCLUSIONS

Les travaux poursuivis depuis dix ans à la Réunion contre la maladie du «greening» ont abouti à une situation phytosanitaire entièrement nouvelle. Le contrôle des populations de psylles, grâce à la lutte biologique, a rendu insignifiante les chances de recontamination par les vecteurs. Cette caractéristique originale a permis d'étudier *in situ* l'effet curatif de deux antibiotiques, et de contribuer ainsi à parfaire les connaissances sur l'étiologie de cette affection.

L'arrêté du 28 octobre 1978 qui frappe d'interdiction l'emploi des antibiotiques en agriculture sur le territoire français ne permet pas d'envisager d'applications pratiques, pour le Département de la Réunion, du procédé d'injection utilisé expérimentalement. Ce mode d'intervention perd au demeurant de son intérêt pour l'île, compte tenu des mesures de prophylaxie qui y sont mises en oeuvre. Il en va tout autrement pour les pays du sud-est asiatique ou de l'Afrique de l'est, pays où les équilibres faunistiques favorisent des pullulations régulières de psylles vecteurs.



Le devenir de l'agrumiculture réunionnaise peut être envisagé favorablement en l'absence d'introduction d'hyménoptères hyperparasites appartenant au genre *Aphidencyrus*. Les conditions de pénétration dans l'île de ce type d'hyménoptère, peuvent se trouver réalisées à la faveur d'une introduction de plantes appartenant à la famille des Rutacées, plus spécialement aux espèces des genres *Citrus*, *Vespris* et *Murraya*. La surveillance aux frontières effectuée par les Services de la Protection des Végétaux devrait mettre le Département à l'abri de ce danger.

Il convient, par ailleurs, de poursuivre le travail commen-

cé en matière de lutte intégrée à l'encontre des autres ravageurs des agrumes, notamment des cochenilles diaspiques et des mouches de fruits, ceci afin d'éviter l'emploi d'insecticides rémanents à large spectre d'efficacité, dont les résidus compromettent le maintien d'un équilibre biologique avantageux. Dans ces conditions, le handicap que présentait le «greening» pourrait être surmonté. Cette maladie constituant de loin le problème le plus grave posé à l'agrumiculture réunionnaise, le Département serait ainsi en mesure de subvenir à ses propres besoins en oranges, mandarines, citrons et pomelos.

## REMERCIEMENTS

*Nous tenons à remercier le Conseil général de l'île de la Réunion pour sa contribution importante dans le financement de ces travaux de recherche sur la maladie du «greening».*

## BIBLIOGRAPHIE

- ANNECKE (D.P.), CATHARINA (J.) et CILLIERS. (1963).  
The Citrus psylla *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO), and its parasites in South Africa.  
*S. Afri. J. Agric. Sci.*, 6, 187-192.
- ANON (J.). (1967).  
Distribution map of insect pests. Series A (Agricultural).  
Commonwealth Institute of Entomology, Map n° 234.
- AUBERT (B.). (1975).  
La lutte aménagée contre les ravageurs des agrumes en Afrique du sud et ses applications pour les Mascareignes.  
*Fruits*, vol. 30, n° 3, p. 149-159.
- AUBERT (B.). (1977).  
Recherches sur la maladie du «greening» à l'île de la Réunion.  
*Rapport de DEA, Université Bordeaux II*, 34 p.
- AUBERT (B.). (1978).  
Compte rendu de mission en Union indienne.  
*Doc. IRFA-Réunion*, 6 p.
- AUBERT (B.). (1979).  
Une technique d'injection sous pression dans le tronc des arbres.  
*Fruits*, vol. 34, n° 3, p. 195-198.
- AUBERT (B.) et BOVE (J.M.). (1980).  
Effect of Penicillin or Tetracyclin injections into citrus trees affected by greening disease under field conditions in Reunion Island.  
*Proceedings of the eighth conference of the International Organization of Citrus Virologists* (sous presse).
- BAR-JOSEPH (M.). (1972).  
Rapport de visite à la Station de Recherches horticoles de Thika.
- BOVE (J.M.) et CASSIN (J.). (1968-A).  
Problèmes de l'agrumiculture réunionnaise.  
*Compte rendu de mission, IFAC Paris*, nov. 1968.
- BOVE (J.M.) et CASSIN (J.). (1968-B).  
Problèmes de l'agrumiculture malgache.  
*Compte rendu de mission, Doc. IRFA*, 50 p.
- BOVE (J.M.), CALAVAN (E.C.), CAPOOR (S.P.), CORTEZ (R.E.) et SCHWARZ (R.E.). (1974).  
Influence of temperature on symptom of California Stubborn, South Africa greening, India Citrus decline and Philippines leaf mottling disease.  
in L.G. WEATHERS & M. COHEN (eds), *Proc. 6th Conf. Intern. Organization Citrus Virol.*, Univ. California Div. Agr. Sciences Berkeley, p. 12-15.
- BOVE (J.M.) et SAGLIO (P.). (1974).  
Stubborn and «greening», a review 1969-1972.  
in L.G. WEATHERS & M. COHEN (eds), *Proc. 6th Conf. Intern. Organization Citrus Virol.*, Univ. California, Div. Agr. Sciences, Berkeley. p. 1-11.
- BOVE (J.M.). (1978).  
Traitement de la maladie du greening des agrumes.  
*Brevet n° 7807855*.
- BOVE (J.M.), BONNET (P.), GARNIER (M.) et AUBERT (B.). (1980).  
Penicillin and Tetracyclin treatments of greening disease affected Citrus plants in the glashouse, and the bacterial nature of the procaryote associated with greening.  
*Proceedings of the eighth conference of the International Organization of Citrus Virologists* (sous presse).
- CADET (Th.). (1977).  
Végétation de l'île de la Réunion. Etude phytoécologique et phytosociologique.  
*Thèse de Doctorat d'Etat, Aix-Marseille III*, 362 p.
- CALAVAN (E.C.), OLSON (E.O.) and CHRISTIANSEN (D.W.). 1972 (1972).  
Transmission of the Stubborn pathogen in Citrus by leaf - piece grafts  
*5th Conf. Citrus Virologists*, n° 5, p. 11-14.
- CAPOOR (S.P.). (1960).  
Kagzi lime : an indicator plant of the Citrus decline virus in India.  
*India Phytopath.*, 14, p. 109-112.
- CAPOOR (S.P.), RAO (D.G.) et VISWANATH (S.M.). (1967).  
*Diaphorina citri* KUWAY, a vector of the greening disease of Citrus in India.  
*India J. As. Sci.*, vol. 37, p. 572-576.
- CAPOOR (S.P.) et THIRUMALACHAR (M.J.). (1973).  
Cure of greening affected Citrus plants by chemiotherapeutics agents.  
*Plant disease reporter* n° 2, vol. 55, p. 160-163.
- CAPOOR (S.P.), RAO (D.G.) et VISWANATH (S.M.). (1974).  
Greening disease of Citrus in the Deccan Trap country and its relations with the vector *Diaphorina citri* KUW.  
in W.C. PRICE (ed) : *Proc. 5th Conf. Intern. Organization Citrus Virol.*, Univ. Florida Press, Gainesville, p. 43-39.
- CATLING (H.D.). (1968-A).  
Report of a visit to Hong Kong to survey for *Diaphorina citri*, the insect vector of leaf mottling greening disease of citrus.  
*FAO (W4 380 68WS)*, p. 15-17.
- CATLING (H.D.). (1968-B).  
Distribution and biology of *Diaphorina citri* the insect vector of «leaf mottling» (greening) disease of citrus.  
*Report to the Government of the Philippines*.



- UNDP FAO n° TA 2589, 22 p.
- CATLING (H.D.). (1969).  
The bionomics of the South African psylla, *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO). 2 - Influence of the parasites and notes on the species *J. ent. Soc. Sth. Afr.*, vol. 32, n° 1, p. 209-223.
- CATLING (H.D.). (1970).  
Distribution of the psyllid vectors of citrus greening disease with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri* KUW. *FAO Plant Prot. Bull.*, vol. 18, p. 8-15.
- CATLING (H.D.). (1973).  
Enquête sur les psyllidés vecteurs de la maladie du «greening» des agrumes à la Réunion.  
*Bull. Phyt. FAO*, n° 4, vol. 21.
- CELINO (C.S.), SALIBE (A.A.) et CORTEZ (R.E.). (1969).  
*Diaphorina citri* KUW the insect vector of the leaf mottling virus of citrus in the Philippines.  
*Sci. Rev. Philippines*, vol. 10, n° 4, p. 27-29.
- CHAPOT (H.). (1970).  
The possibilities of improving and developing fruit crops with particular reference to Citrus.  
*Inst. of Agric. Res.*
- CHEN (M.H.), MIYAKAWA (T.) et MATSUI (C.). (1971).  
Mycoplasmalike bodies associated with likubin disease Ponkan Citrus.  
*Phytopathology*, 61-598.
- CHILDS (J.F.L.). (1979).  
Florida citrus blight. Part I - Some causal relations of Citrus blight.  
*Plant Disease Reporter*, vol. 63, n° 7, p. 560-564.
- CHILDS (J.F.L.). (1979).  
Florida citrus blight. Part II - Occurrence of Citrus blight outside.  
*Plant Disease Reporter*, vol. 63, n° 7, p. 565-569.
- CLAUSEN (C.P.). (1933).  
The Citrus insects of tropical Asia.  
*Lingnan Sci. J.*, 15-127.
- COCHRAN (L.C.). (1976).  
The occurrence of greening disease in Pakistan.  
in E.C. CALAVAN : *Proc. 7th Conf. Intern. Organization Citrus virol.*, Univ. California, Riverside, p. 21.
- CRAWFORD (D.L.). (1917).  
Philippines and asiatic psyllidae.  
*Philipp. Sci. (D)*, 12 (3), p. 163-175.
- ETIENNE (J.). (1978).  
Contrôle biologique à la Réunion de *Trioza erytrae* (Homopt., Psyllidae) au moyen de *Tetrastichus dryi* (Hym. Eulophidae).  
*Fruits*, vol. 33, n° 12, p. 877-882.
- ETIENNE (J.). (1979).  
Lutte biologique contre *Diaphorina citri* vecteur de la maladie du «greening» à la Réunion.
- ETIENNE (J.) et AUBERT (B.). (1980).  
Biological control of psyllid vectors of greening disease in Reunion Island.  
*Compte rendu de la 8ème Conférence internationale de l'IOCV* (sous presse).
- FRASER (L.R.), DALJIT (SINGH) et CAPOOR (S.P.). (1966).  
Greening virus, the likely cause of Citrus disback in India.  
*FAO Plant Prot. Bull.*, vol. 14, p. 127-130.
- GARNIER (M.), LATRILLE (J.) et BOVE (J.M.). (1976).  
*Spiroplasma citri* and the organism associated with likubin : comparison of their envelope systems.  
*Proc. 7th Conf. Intern. Organization Citrus Virol.*, 13-17.
- GARNIER (M.) et BOVE (J.M.). (1977).  
Structure trilamellaire des deux membranes qui entourent les organismes procaryotes associés à la maladie du «greening» des agrumes.  
*Fruits*, 32, p. 749-742.
- GARNIER (M.) et BOVE (J.M.). (1978).  
The organism associated with Citrus greening disease is probably a member of the Schizomycetes.  
*Zentralblatt für bakteriologie, parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, Reihe A*, 221-222.
- GREEN (G.C.) et CATLING (H.D.). (1971).  
Weather-induced mortality of the Citrus Psylla, *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO) (Homoptera psyllidae) a vector of greening virus in some Citrus producing areas of Southern Africa.  
*Agr. Meteorol.*, 8, p. 305-317.
- GHUYSEN (J.M.) et SHOCKMAN (G.D.). (1973).  
Bacterial membranes and walls  
*L. LEIVE edit., M. DEKKER*, 37-130.
- GIBBONS (N.E.) et MURRAY (R.G.E.). (1973).  
Proposals concerning the higher taxa of bacteria.  
*Intern. J. of Syst. Bacteriol.*, 23, p. 1-6.
- ISHIL (T.), DOI (Y.), YORA (K.) et MUSAYAMA (H.). (1967).  
Suppressive effects of antibiotics of tetracycline groupe on symptoms development of mulberry dwarf disease.  
*Ann. Phytopath. Soc. Japan*, 33, p. 267-275.
- KNORR (L.C.), GUPTA (O.P.) et AHMAD (S.). (1970).  
Occurrence of greening virus disease of Citrus in West Pakistan.  
*Plant Disease Reporter, Beltsville*, vol. 54, n° 7.
- KNORR (L.C.) et MOIN SHAH (S.). (1971).  
Les problèmes agrumicoles dans le monde. Vol. Nepal.  
*FAO Plant Prot. Bull.*, vol. 19, p. 4.
- LAFLECHE (D.) et BOVE (J.M.). (1970 a)  
Structures de type mycoplasme dans les feuilles d'orangers atteints de la maladie du Greening.  
*C.R. Acad. Sci., Ser. D* 270, 1915-1917.
- LAFLECHE (D.) et BOVE (J.M.). (1970 b).  
Mycoplasmes dans les agrumes atteints de «greening», de «stubborn» ou de maladies similaires.  
*Fruits*, 25, p. 455-465.
- LIN (K.H.). (1956).  
Observations on yellow shoot of Citrus. Etiological studies of yellow shoot of Citrus.  
*Acta Phytopathologica Sinica*, 2, p. 1-42.
- LIN (C.) et LIN (K.M.). (1964).  
Notes on Citrus yellow disease.  
*Acta Phytoph. Sinica, Pékin*, vol. 2, n° 3, p. 237-242 et 243-251.
- LOSSOIS (P.). (1980).  
Essai d'injections antibiotiques sur agrumes à la Réunion. Analyse statistique.  
*Doc. IRFA*, 20 p.
- MAC CLEAN (A.P.P.) et OBERHOLZER (P.C.J.). (1965).  
Citrus psylla, a vector of the greening disease of sweet orange.  
*S. Afric. J. Agric. Sci.*, 8, p. 297-298.
- MARTINEZ (A.L.) et WALLACE (J.M.). (1967).  
Citrus leaf mottle-yellow disease in the Philippines and transmission of the causal virus by a psyllid *Diaphorina citri*.  
*Ol. Dis. Repr.*, 51, p. 692-695.
- MARTINEZ (A.L.). (1970).  
Inactive effects of antibiotics on the causal agent of Citrus greening disease in the Philippines.  
*Doc. Southeast Asia Regional Symposium on plant disease* Jogjakarta, Indonesia, 7 p.
- MASSONIE (G.), GARNIER (M.) et BOVE (J.M.). (1976).  
Transmission of India Citrus decline by *Trioza erytrae* (DEL GUERCIO), the vector of South Africa greening.  
in E.C. CALAVAN : *Proc. 7th Conf. intern. Organization Citrus Virol.*, Univ. California, Riverside, p. 18-20.
- MATSUMOTTO (T.), WANG (M.C.) et SU (H.J.). (1961).  
Studies on Likubin.  
in W.C. PRICE (ed.) : *Proc. 2nd Conf. intern. Organization Citrus Virol.*, Univ. Florida press, Gainesville, p. 121-125.
- MATSUMOTO (T.) et SU (H.J.). (1966).  
Likubin or Huanglungpin, citrus disease closely related to Tristeza.  
*J. of Agr. Ass. of China*, n° 66, p. 76-86.
- MING-HSIUNG OHEN (T.), MIYAKAWA (T.) et MATSUI (C.). (1972)  
Citrus Likubin pathogens in salivary glands of *Diaphorina citri*.  
*Phytopathology*, vol. 63, n° 1.



- MOLL (J.N.) et MARTIN (M.N.). (1973).  
Electron microscope evidence that *Citrus psylla* (*Trioza erytrae*) in a vector of greening disease in South Africa.  
*Phytophylactica Sp.*, p. 41-44.
- MOLL (J.N.) et MARTIN (M.N.). (1974)  
Comparison of the organism causing greening disease with several plant pathogenic gram negative bacteria rickettsia-like organisms and mycoplasmalike organism.  
*INSERM*, 33, 89-96.
- MORAN (V.C.). (1968).  
The development of *Citrus psylla Trioza erytrae* (DEL GUERCIO) (Homoptera Psyllidae) on *Citrus limon* and four indigenous host plants.  
*J. Ent. Soc. Sth. Afric.*, vol. 31, n° 2, p. 391-402.
- MOREIRA (S.). (1967).  
Enquête sur les maladies des agrumes, îles Maurice et de la Réunion  
*Bulletin phytosanitaire FAO*, 15, p. 59-60.
- OBERHOLZER (P.J.C.), VON STANDEN (D.F.A.) et BASSON (W.T.) (1965).  
Greening disease of sweet orange in South Africa.  
in PRICE (ed.) *Proc. third Conf. intern. Organization Citrus Virol.*, p. 213-224.
- ORIAN (A.). (1972)  
The psylloidea of Mauritius with a description of *Trioza eastopi* sp. nov.  
in *Fauna of Mauritius Insects - Homoptera*, n° 1, 8 p.
- PANDE (Y.D.). (1971).  
Biology of *Citrus psylla Diaphorina citri* KUM (Hemiptera Psyllidae)  
*Israel Journal of Entomology*, vol. VI, p. 307-310.
- SALIBEE (A.A.) et CORTEZ (R.E.). (1966).  
Studies on leaf mottling disease of *Citrus* in the Philippines.  
*FAO Plant Prot. Bull.*, vol. 14, p. 141-144.
- SAGLIO (P.), LAFLECHE (D.), BONISSOL (C.) et BOVE (J.M.). (1971).  
Isolement, culture et observation au microscope électronique des structures associées à la maladie du stubborn des agrumes et leur comparaison avec les structures observées dans le cas de la maladie du greening des agrumes.  
*Physiol. Vég.*, 9, 569-582.
- SCHWARZ (R.E.) et VAN VUUREN (S.P.) (1971).  
Decrease in fruit «greening» of sweet orange by trunk injection of tetracyclin.  
*Plant Dis. Report*, 55, 747-750.
- SCHWARZ (R.E.) et GREEN (G.C.). (1972).  
Heat requirement, for symptoms suppression and inactivation of the greening pathogen.  
in W.X. PRICE (ed.), *Proc. 5th Conf. Intern. Organization Citrus Virol.*, Univ. Florida Press Gainesville, p. 44-45.
- SCHWARZ (R.E.) et KNORR (L.C.). (1973).  
Presence du greening des agrumes et du psylle vecteur en Thaïlande.  
*Bulletin phytosanitaire de la FAO*.
- SCHWARZ (R.E.), MOLL (J.N.) et VAN VUUREN (S.P.). (1974)  
Control of *Citrus* «greening» and its psylla vector by trunk injections of tetracyclin and insecticides.  
*Proceedings of the sixth Conf. of intern. Organization of Citrus Virol.*, 26-29.
- SCHWARZ (E.). (1976).  
Citrus greening in Ethiopia.  
*Technical report United Nation Dt. Programme FAO of the UN ETH*, 74/002, 15 p.
- SCHWARZ (E.). (1975).  
Citrus greening in Kenya.  
*Technical report United Nation Dt. Programme FAO of the UN KEN* 71/528, 15 p.
- SU (H.J.) et CHANG (S.C.). (1976).  
The responses of the likubin pathogen to antibiotics and heat therapy.  
*Proceeding of the seventh Conf. of the intern. Organization of Citrus Virol.*, 27-34.
- TANAKA (S.) et DOI (Y.). (1973).  
Mycoplasma like organism found in *Citrus* plant infected with likubin and leaf mottling.  
*International Citrus Congress, Murcia Valencia, April 29 to May 10 1973*, p. 352-353. Abstracts volume.
- TIRTAWIDJA (S.), HADIWIDJAJA (T.), LESHEEN (A.M.). (1964).  
Citrus vein phloem degeneration virus, a possible cause of *Citrus chlorosis* in Java.  
*Proc. amer. Soc. Hort. Sci. Beltsville*, juin 1965, vol. 86, p. 235-243.
- VOGEL (R.). (1973).  
L'amélioration sanitaire des agrumes par indexation.  
*Rapport de DEA, Université de Bordeaux II*, 57 p.
- WATERSTON (J.). (1962).  
On the chalcidoid parasites of psyllids (Hemiptera, Homoptera).  
*Bull. ent. Res.*, 13, p. 41-58.

